

· 临床研究 ·

轮状病毒肠炎患儿血清及粪便白细胞介素-18 和干扰素- γ 含量的变化及意义

高有桂¹, 金玉², 柳颐龄³, 叶新华²

(1. 兰州市西固区医院儿科, 甘肃 兰州 730060; 2. 兰州大学第一医院儿科, 甘肃 兰州 730000; 3. 兰州化学工业公司职工医院儿科, 甘肃 兰州 730060)

[摘要] 目的 轮状病毒是世界范围内婴幼儿腹泻的主要病原体之一,但其发病机制尚不完全清楚。该研究旨在探讨急性轮状病毒肠炎患儿血清及粪便上清液中白细胞介素-18(IL-18)和干扰素- γ (IFN- γ)含量的变化及临床意义。方法 收集2004年7月至2005年2月间50例因急性轮状病毒肠炎入住兰州大学第一医院及西固区医院儿科的患儿粪便及血清,用酶联免疫吸附试验检测IL-18及IFN- γ 的含量。选取21例同龄正常儿童血清及粪便作对照。结果 50例急性轮状病毒肠炎患儿的血清及粪便IL-18, IFN- γ 含量均较正常对照组明显升高($P < 0.01$ 或 0.05),而且血清IFN- γ 含量与呕吐次数呈负相关($r = -0.368, P < 0.05$),粪便IL-18含量与腹泻次数呈负相关($r = -0.414, P < 0.05$),血清IL-18含量与血清IFN- γ 含量呈正相关性($r = 0.416, P < 0.05$)。结论 IL-18及IFN- γ 在婴幼儿急性轮状病毒感染时血清和粪便中明显升高,且与病情的严重程度有关,可能在轮状病毒感染早期发挥抗病毒作用。

[中国当代儿科杂志, 2006, 8(4): 304-306]

[关键词] 轮状病毒肠炎; 白细胞介素-18; 干扰素- γ ; 婴幼儿

[中图分类号] R725.7 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1008-8830(2006)04-0304-03

Variation and significance of serum and stool IL-18 and IFN- γ levels in children with rotavirus enteritis

GAO You-Gui, JIN Yu, LIU Yi-Ling, YE Xin-Hua. Department of Pediatrics, Xigu Hospital of Lanzhou, Lanzhou 730060, China (Email: gygxu99@163.com)

Abstract: Objective To study the variation and significance of serum and stool IL-18 and IFN- γ levels in children with rotavirus enteritis. **Methods** Serum and stool specimens from 50 children with acute rotavirus enteritis were collected before treatment. Serum and stool levels of IL-18 and IFN- γ were measured using ELISA. Serum and stool specimens from 21 age and gender-matched healthy children were used as the Control group. **Results** Serum and stool levels of IL-18 and IFN- γ in patients with rotavirus enteritis were significantly higher than those in the Control group. There was a negative correlation between the serum IFN- γ level and the frequency of vomiting ($r = -0.368, P < 0.05$). The stool IL-18 level negatively correlated to the frequency of diarrhea ($r = -0.414, P < 0.05$). A positive correlation was found between the serum levels of IL-18 and IFN- γ ($r = 0.416, P < 0.05$). **Conclusions** Serum and stool levels of IL-18 and IFN- γ were increased and associated with the severity in children with rotavirus enteritis. IL-18 and IFN- γ might have protective effects against acute rotavirus infection at the early stage.

[Chin J Contemp Pediatr, 2006, 8(4): 304-306]

Key words: Rotavirus enteritis; IL-18; IFN- γ ; Child

轮状病毒(rotavirus, RV)感染引起的腹泻病是婴幼儿时期发病率较高的疾病之一,对儿童健康的危害较大,是造成小儿营养不良、生长发育障碍和死亡的主要原因之一^[1]。但机体感染轮状病毒后的发病机制尚不完全清楚,有研究表明^[2]轮状病毒肠炎时血清及粪便干扰素- γ (IFN- γ)含量明显增加,白细胞介素-18(IL-18)的生物学主要作用是活化

NK和T细胞并刺激其分泌IFN- γ ,发挥抗病毒作用。鉴于IL-18在轮状病毒肠炎中的作用报道很少,因此我们从免疫学角度选择了IL-18和IFN- γ 作为研究对象,旨在探讨其在血清及粪便的变化及可能的临床意义。

[收稿日期]2005-11-15;[修回日期]2006-01-20

[作者简介]高有桂,女,在读硕士,主治医师。主攻方向:轮状病毒肠炎。

1 对象与方法

1.1 研究对象

2004年7月至2005年2月因急性腹泻收住兰州大学第一医院、西固区医院儿科的轮状病毒抗原阳性的患儿50例,男29例,女21例,年龄5个月至5岁,平均为13.6个月,粪便及血清采集时间均在发病3d以内。另选轮状病毒抗原阴性的正常对照儿童21例,男11例,女10例,年龄8个月至4岁10个月,平均为12.8个月。两组性别、年龄对比差异无显著性($P>0.05$)。

1.2 分组

根据第6版儿科学教材^[3]制定的标准将患儿分为轻、重型组,其中轻型腹泻组21例,重型腹泻组29例,所有病例在采集粪便及血清前未使用抗病毒及丙种球蛋白、血浆、免疫调节剂、皮质激素的治疗。

1.3 标本采集

用无菌管采集粪便,ELISA法检测轮状病毒抗原,试剂盒由卫生部兰州生物制品研究所生产。对轮状病毒抗原阳性的粪便准确称取1g,加1mL 0.01M pH 7.4的PBS缓冲液震荡2min,4000 r/min,离心20min,吸取上清液-70℃冻存。同时留取该患儿静脉血2mL,2500 r/min,离心10min,分离血清-70℃冻存待测。

1.4 IL-18, IFN- γ 检测

血清及粪便上清液IL-18, IFN- γ 检测采用双抗体夹心ELISA法,IL-18试剂盒购自美国Rapidbio

Lab, IFN- γ 试剂盒购自深圳晶美公司,严格按试剂盒说明操作。

1.5 统计方法

所有数据经SPSS 10.0统计软件进行分析,检测结果以均数 $\pm$ 标准差表示,采用方差分析,对有相关趋势的变量采用直线相关分析。双侧 $\alpha=0.05$ 作为检验标准, $P<0.05$ 为差异有显著性。

2 结果

2.1 RV 肠炎患儿血清及粪便的 IL-18, IFN- γ 含量

急性RV感染患儿轻型及重型腹泻组血清及粪便IL-18, IFN- γ 含量均较正常对照组明显升高($P<0.01$ 或 0.05),重型腹泻组与轻型腹泻组比较血清IFN- γ 含量明显降低($P<0.05$)。

2.2 血清及粪便 IL-18, IFN- γ 含量与临床指标关系

血清及粪便IL-18, IFN- γ 含量与临床指标经直线相关分析,结果表明:血清IFN- γ 含量与呕吐次数呈负相关, $r=-0.368$, $P<0.05$;粪便IL-18含量与腹泻次数呈负相关, $r=-0.414$, $P<0.05$,而腹泻持续时间等与IL-18和IFN- γ 含量均无相关性。

2.3 血清及粪便 IL-18 与 IFN- γ 含量的相关性

患儿血清及粪便IL-18与IFN- γ 含量经直线相关分析,结果为血清IL-18与血清IFN- γ 含量的变化呈正相关, $r=0.416$, $P<0.05$ 。

表1 急性轮状病毒感染患儿血清及粪便的 IL-18, IFN- γ 含量

($\bar{x} \pm s$, pg/mL)

组别	例数	血清		粪便	
		IL-18	IFN- γ	IL-18	IFN- γ
正常对照组	21	69.00 $\pm$ 35.71	11.44 $\pm$ 4.35	62.57 $\pm$ 23.77	7.54 $\pm$ 0.76
轻型腹泻组	21	325.90 $\pm$ 217.61 ^b	35.94 $\pm$ 14.98 ^b	346.90 $\pm$ 211.94 ^a	16.05 $\pm$ 6.67 ^b
重型腹泻组	29	232.27 $\pm$ 147.58 ^a	23.11 $\pm$ 11.73 ^{a, c}	290.63 $\pm$ 187.44 ^a	12.61 $\pm$ 3.66 ^a

与正常对照组比较, a $P<0.05$, b $P<0.01$; c 与轻型腹泻组比较 $P<0.05$

3 讨论

轮状病毒为双链RNA病毒,属呼肠病毒科轮状病毒属,按基因分A、B、C、D、E、F、G 7个组,与人有关的为A、B、C组,A组主要感染婴幼儿,集中在6~24月龄的儿童,43%~78%的死亡病例发生在1岁期间^[3]。轮状病毒主要侵犯小肠微绒毛,而肠道局

部淋巴结中主要是T淋巴细胞,故细胞免疫在肠道抗病毒中起主要作用。IL-18的主要作用是活化NK细胞、T细胞并刺激其分泌IFN- γ ^[5],能增强NK细胞的细胞毒作用,可提高穿孔素依赖的细胞毒活性和Fas L介导的NK细胞的杀伤效应^[6]。

研究显示:发病3d内的患儿轻型腹泻组与重型腹泻组血清及粪便的IL-18均较正常对照组明显升高,而且粪便IL-18与腹泻次数呈负相关,表明

IL-18 参与轮状病毒感染急性期的炎症反应,腹泻次数频繁的患儿细胞免疫反应可能受到抑制。病毒感染早期在免疫中起主要作用的 IFN- γ 的分泌量,取决于体内的 IL-18 的含量^[7]。IL-18 还可单独激活 CD8⁺ T 细胞,在病毒的清除中起着决定性的作用。轮状病毒感染后病毒抗原及其免疫复合物直接刺激机体的 T 细胞、NK 细胞、巨噬细胞等免疫活性细胞分泌 IL-18,使其在血清中的含量相应增加。轮状病毒肠炎患儿急性期 IL-18 升高,可能有助于机体早期启动特异性和非特异性免疫,从而最大限度地调动各类免疫细胞参与轮状病毒的感染免疫,为加速疾病自愈提供了有利的免疫环境。

轻型腹泻组与重型腹泻组血清及粪便的 IFN- γ 含量均较正常对照组明显升高,提示婴幼儿急性轮状病毒感染时肠黏膜局部产生 IFN- γ ,并通过黏膜屏障进入血液循环,发挥抗轮状病毒作用。IFN- γ 在发病初期发挥重要的免疫启动作用,不仅可直接限制病毒的复制和扩散,而且对许多免疫细胞发挥免疫调节作用,有利于疾病的康复。IFN- γ 可抑制轮状病毒进入小肠上皮细胞^[8],调节小肠的转运及渗透功能,减轻腹泻的程度;能增强 T 细胞和 NK 细胞杀伤靶细胞的能力;还能增强巨噬细胞杀伤被吞噬病原微生物的能力,促进单核细胞的抗病毒能力,并能激活补体系统。有研究显示^[9]:急性轮状病毒感染患儿外周血分泌 IFN- γ 的 CD4⁺、CD8⁺ T 细胞水平很低,提示存在细胞免疫抑制,而本研究结果提示重症组血清 IFN- γ 低于轻症组,表明重症患儿可能存在细胞免疫功能降低。

血清的 IFN- γ 含量与采血当日的呕吐次数呈负相关,其机制不详。轮状病毒及其毒素可通过刺激迷走传入神经、中脑传入神经等途径使脑干呕吐中枢兴奋而发生呕吐,而血清 IFN- γ 含量在轮状病毒肠炎患儿无呕吐或伴有轻度呕吐时明显升高,可能 IFN- γ 可抑制脑干呕吐中枢兴奋而起保护作用,减轻病毒对机体的损害。

急性轮状病毒感染患儿血清 IL-18 与血清 IFN- γ 呈正相关。轮状病毒作为诱导剂能够诱导感染患儿的 T 细胞、NK 细胞、巨噬细胞、肠上皮细胞等产生 IL-18,进而产生 IFN- γ ,而 IFN- γ 又通过正反馈的

方式增强 IL-18 的活性,两者共同调节免疫功能。IL-18 诱导 T 细胞产生 IFN- γ 的量呈剂量依赖性关系^[10],IL-18 缺陷小鼠感染流感病毒 A 早期的血清及支气管肺泡灌洗液中 IL-18 含量很低,IFN- γ 同样很低,病毒复制迅速^[11],说明 IL-18 在诱导免疫细胞产生 IFN- γ 中起着重要的作用,两者有相关性。

[参 考 文 献]

- [1] 张春芳,贾立英. 亚洲地区轮状病毒感染的流行病学概况[J]. 中国当代儿科杂志,2006,8(1):79-82.
- [2] 齐铁雄,谢立新,王永祥,王军民,陈惠兰,周立智. 轮状病毒肠炎患儿血清及大便 IL-2、IL-6、IFN- γ 动态变化及与临床指标关系的研究[J]. 中华实验和病毒学杂志,2002,16(3):270-273.
- [3] 杨锡强,易著文. 儿科学[M]. 第6版. 北京:人民卫生出版社,2004,295-296.
- [4] Fikree FF, Azam SI, Berendes HW. Time to focus child survival programmes on the newborn: assessment of levels and causes of infant mortality in rural Pakistan[J]. Bull World Health Organ, 2002, 80(4): 271-276.
- [5] Micallef MJ, Ohtsuki T, Kohno K. Interferon-gamma-inducing factor enhances T helper 1 cytokine production by stimulated human T cells: synergism with interleukin-12 for interferon-gamma production[J]. Eur J Immunol, 1996, 26(7): 1647-1651.
- [6] Katerina Artavanis-Tsakonas, Riley EM. Innate immune response to malaria: rapid induction of IFN- γ from human NK cells by live plasmodium falciparum-infected erythrocytes[J]. J Immunol, 2002, 169(6): 2956-2963.
- [7] 刘恒贵,曹殿军. 白细胞介素 18 生物学作用及其在病毒感染中的表达调控[J]. 动物医学进展,2002,23(4):6-9.
- [8] Bass DM. Interferon gamma and interleukin 1, but not interferon alfa, inhibit rotavirus entry into human intestinal cell lines[J]. Gastroenterology, 1997, 113(1):81-89.
- [9] Jaimes MC, Rojas OL, González AM, Cajiao I, Charpilienne A, Pothier P, et al. Frequencies of virus-specific CD4⁺ and CD8⁺ T lymphocytes secreting gamma interferon after acute natural rotavirus infection in children and adults[J]. J Virol, 2002, 76(10): 4741-4749.
- [10] Smeltz RB, Chen J, Hu-Li J, Jane Hu-Li, Ethan M Shevach. Regulation of interleukin-18 receptor alpha chain expression on CD4(+) T cells during T helper (Th) 1 / Th2 differentiation. Critical downregulatory role of IL-4[J]. J Exp Med, 2001, 194(2): 143-153.
- [11] Liu B, Mori I, Hossain MJ, Dong L, Takeda K, Kimura Y. Interleukin-18 improves the early defense system against influenza virus infection by augmenting natural killer cell-mediated cytotoxicity[J]. J Gen Virol, 2004, 85(Pt2): 423-428.

(本文编辑:吉耕中)